

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE. — N° 95

SUR LA
TOXICOLOGIE
DU
PENTACHLOROPHÉNOL

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

(SECTION DE PHARMACIE)

Présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 29 Avril 1936

PAR

PIERRE BAYLÉ

Né le 3 Juillet 1899 à Charolles (Saône-et-Loire)



ÉDITIONS DE LA VIE UNIVERSITAIRE

13, QUAI DE CONTI, 13, PARIS. — 1924

La Toxicologie
du Pentachlorophénol

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire. M. H. HUGOUNENQ
Doyen M. J. LEPINE.
Assesseur M. ROQUE.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. AUGAGNEUR, CAZENEUNE, BEAUVISAGE,
LACASSAGNE, TESTUT, FLORENCE (A.), TEISSIER.

PROFESSEURS

Cliniques médicales	}	MM. BARD.
Cliniques chirurgicales		ROQUE TIXIER BERARD
Clinique obstétricale et Accouchements		COMMANDEUR
Clinique ophtalmologique.		ROLLET
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.		NICOLAS
Clinique neurologique et psychiatrique.		LEPINE (J.)
Clinique des maladies des enfants.		WEIL
Clinique des maladies des femmes.		VILLARD
Clinique d'oto-rhino-laryngologie.		LANNOIS
Clinique des maladies des voies urinaires.		ROCHET
Clinique chirurgicale, infantile et orthopédie.		NOVE JOSSERAND
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie.		CLUZET
Chimie biologique et médicale.		HUGOUNENQ
Chimie organique et Toxicologie.		MOREL
Matière médicale et Botanique.		BRETIN
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.		GUIART
Anatomie		LATARJET
Histologie		POLICARD
Physiologie		DOYON
Pathologie interne		COLLET
Pathologie et Thérapeutiques générales.		MOURIQUAND
Anatomie pathologique.		PAVIOT
Chirurgie opératoire.		X.
Médecine expérimentale et comparée et bactér.		ARLOING (F.)
Médecine légale.		ETIENNE MARTIN
Hygiène		COURMONT (P.)
Thérapeutique, hydrologie et climatologie.		PIC
Pharmacologie.		X.

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un cours de Pathologie externe	MM. VALLAS
— — Propédeutique de gynécologie.	CONDAMIN
— — Chimie minérale	BARRAL
— — Urologie	GAYET

CHARGES DE COURS COMPLÉMENTAIRES

Anatomie topographique.	MM. PATEL
Orthopédie.	LAROYENNE
Puériculture et hygiène de la première enfance	CHATIN
Chirurgie expérimentale.	LERICHE
Stomogie.	TELLIER

AGRÉGÉS

MM.	MM.	MM.	MM.
NOGIER	COTTE	CORDIER V.	MAZEL
THEVENOT Léon	DUROUX	ROUBIER	SANTY
GARIN	TRILLAT	FAVRE	DUNET
SAVY	SARVONAT	BONNET	CHALIER André
FROMENT	FLORENCE G.	RHENTER	CHALIER Joseph
THEVENOT Luc.	ROCHAIX	LEULIER	NOEL
PIERY			CORDIER Pierre

M. BAYLE, secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. *Barral*, Président; *Rochoix*, Assesseurs;
MM. *Florence*, et *Leulier*, Agrégés.

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE. — N° 95-

SUR LA
TOXICOLOGIE
DU
PENTACHLOROPHÉNOL

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

(SECTION DE PHARMACIE)

Présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 29 Avril 1924-

PAR

PIERRE BAYLÉ

Né le 8 Juillet 1899 à Charolles (Saône-et-Loire)



ÉDITIONS DE LA VIE UNIVERSITAIRE

13, QUAI DE CONTI, 13, PARIS. — 1924

Cette thèse a été faite au laboratoire de M. le Professeur Barral, sous son inspiration. C'est sous sa direction que j'ai pu mener à bien ma tâche.

Qu'il reçoive ici, avec l'hommage de ce travail, le témoignage de mon respect et de ma reconnaissance.

J'associe à cet hommage M. le Professeur Doyon, qui m'a accueilli dans son laboratoire, et son chef de travaux, Mademoiselle Loison.

Je tiens à remercier ici mon compatriote et ami, M. Paupert-Ravault, interne des hôpitaux, d'avoir bien voulu se charger des examens histologiques que comportait ma thèse.



A MONSIEUR LE PROFESSEUR BARRAI.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

INTRODUCTION

Le pentachlorophénoï, C^6Cl^5OH , a été préparé pour la première fois, vers 1843, par Laurent, chimiste français, par passage d'un courant de chlore dans l'alcool tenant en suspension de la chloriratinase. Plusieurs auteurs par la suite, préparèrent ce corps par divers procédés. En 1895, M. Barral, en étudiant les dérivés surochlorés du phénol et du benzène, fut amené à employer trois procédés de chloruration du phénol. Le premier de ces procédés consiste à préparer d'abord le Trichlorophénoï; puis on ajoute du pentachlorure d'antimoine (5 0/0 du phénol employé) et on continue à faire passer le courant du chlore en élevant peu à peu la température, sans que celle-ci dépasse 125-130°.

Dans le deuxième procédé, la chloruration du phénol est opérée en présence de perchlorure de fer anhydre, par un courant de chlore sec.

Dans le troisième procédé, c'est l'iode qui est employé comme adjuvant.

Au laboratoire de M. Barral, M. Jambon a étudié spécialement ces deux derniers procédés pour la préparation du pentachlorophénoï. Il a de même étudié un procédé pratique de purification de ce corps.

Nous n'avons pas eu à préparer le pentachlorophénoï que nous voulions expérimenter : il en existait d'assez grandes quantités au laboratoire, préparé autrefois par M. Barral. Mais ce produit était brut. Nous avons dû le

purifier et y sommes parvenu de la manière suivante, en nous inspirant du procédé indiqué par M. Jambon dans sa thèse sur le Pentachlorophénol et quelques pentachlorophénates et en y introduisant quelques modifications personnelles.

Le pentachlorophénol a été dissous dans un excès de carbonate de soude pur, à chaud. Le carbonate de soude dissout très bien le pentachlorophénol, dans ces conditions, avec dégagement d'anhydride carbonique. Il a l'avantage de ne pas dissoudre quelques matières résineuses brunes, qui restent au fond de la capsule. Nous avons utilisé le procédé indiqué par MM. Barral et Jambon, comportant l'emploi du bioxyde de sodium, pour la purification du produit, ajouté à raison de 2 à 3 0/0 de son poids, quand le pentachlorophénol est en solution à l'état de sel de soude.

Sur la solution alcaline filtrée, nous avons opéré des précipitations fractionnées. Rejetant le premier dixième nous avons éliminé les tri et tétrachlorophénol, moins électronégatifs que le pentachlorophénol, donc précipités avant lui. Nous avons rejeté également le dernier dixième. Pour cette précipitation, nous avons employé de l'acide sulfurique dilué, et non de l'acide chlorhydrique qui, s'il n'est pas absolument pur, peut contenir du fer. Une cristallisation dans le benzène nous a donné un produit pur, dont nous avons vérifié le point de fusion (186°).

C'est un beau produit cristallin constitué par des prismes rhomboïdaux incolores. Il est sublimable en aiguilles soyeuses. Presque insoluble dans l'eau froide (MM. Barral et Jambon donnent le chiffre de 0,005 0/0), il est par contre soluble dans l'alcool fort et surtout dans le benzène (9,34 0/0). Le pentachlorophénol ne donne pas de dérivés sulfo-conjugués. L'amalgame de sodium en présence de

l'eau ne le décompose que très lentement, en donnant du monochlorophénol. L'acide azotique le transforme en perchloroquinone, avec formation de chloropierine. Les oxydants (chlorate de potasse et acide chlorhydrique, eau régale, chlore en présence de l'eau) détruisent une forte proportion de pentachlorophénol et transforment successivement le reste en heptachlorophénol, hexachlorophénol, et en quinone perchlorée. Leur action a été l'objet de l'étude de M. Barral. De même, M. Barral a obtenu les éthers acétique, propionique, butyrique, benzoïque phosphorique du pentachlorophénol. M. Hugouneau a obtenu l'éther méthylique. Le carbonate de pentachlorophénol, de même que plusieurs carbonates mixtes du pentachlorophénol et de divers alcools, ont été obtenus par M. Barral.

Pour l'administrer aux animaux, nous transformions le pentachlorophénol au sel de soude par dissolution d'une quantité connue dans de l'eau distillée contenant un léger excès de carbonate de soude pur, à une température voisine de l'ébullition, au bain-marie. Puis nous neutralisons avec de l'acide chlorhydrique pur très étendu. Nous étendions d'eau distillée, dans un ballon jaugé, jusqu'au repère, après refroidissement. Nous avons ainsi des solutions titrées que nous préparions toujours en petites quantités, conservées bien bouchées, (car à froid l'acide carbonique de l'air décompose le pentachlorophénate de soude) et que nous renouvelions souvent

Nous avons divisé ce travail en deux parties :

Première partie : Etude de l'action toxique.

§ 1. Détermination de la dose toxique minimale pour différentes espèces animales. Action physiologique

§ 2. Détermination de la dose toxique pour la levure de

bière, pour divers micro organismes et effets sur la germination de quelques plantes.

Deuxième partie : Recherche du toxique.

§ 1. Réactions, leur sensibilité. Méthode de recherche.

§ 2. Recherche du pentachlorophénol dans l'organisme.

A. Le pentachlorophénol se localise-t-il en nature dans quelques organes.

B. Le pentachlorophénol est-il éliminé en nature.

Troisième partie : Modifications apportées dans la composition de l'urine par suite de l'introduction de pentachlorophénol dans l'organisme.

Conclusions.

PREMIÈRE PARTIE

Etude de l'Action Toxique

§ 1. Détermination de la dose toxique minimale pour quelques espèces animales.

Effets physiologiques

Pour ce qui est de la détermination de la dose toxique minimale sur la grenouille, le cobaye et le chien, nous nous sommes efforcé de déterminer : A. Quelle est la dose minima unique qui *a)* par la voie hypodermique ; *b)* par voie gastro-intestinale, détermine la mort de l'animal.

B. Quel est l'effet obtenu en administrant à l'animal, par voie gastro-intestinale ou par voie hypodermique, des doses faibles et répétées. Cette expérimentation n'a été faite que sur le cobaye.

Pour plus de netteté, nous avons mis les expérimentations faites sur chaque espèce animale en tableaux indiquant pour chaque cas : la date, le poids de l'animal, la dose administrée, la dose par kilogramme d'animal, et, brièvement, le résultat obtenu. Pour chaque espèce animale expérimentée, nous n'avons rapporté avec tous les détails qu'une ou deux expérimentations, choisies parmi les plus typiques. Nous avons également donné avec détails un ou deux rapports d'autopsies, choisis également parmi les plus caractéristiques.

Le toxique a toujours été administré sous forme de sel de soude dissous dans l'eau distillée. Mais toute les doses sont exprimées en pentachlorophénol.

POISSONS

Les premiers animaux sur lesquels ont porté nos essais furent les poissons.

Une perche du poids de 60 grammes, est mise dans un vase contenant trois litres d'eau ordinaire à laquelle nous ajoutons trois milligrammes de pentachlorophénol sous forme de sel de soude, en solution neutre. Pendant la première demi-heure, rien ne se passe de particulier. Puis le poisson s'agite. Il voudrait fuir : il monte, et descend. Il commence à osciller. Il semble alors s'affaiblir, ne bouge plus guère et se tient incliné sur le côté. Il meurt une heure trois quarts après l'addition du toxique à son eau.

Un second poisson, du poids de 45 grammes, est mis dans trois litres d'eau contenant un centigramme par litre. Il s'agite immédiatement, et est bientôt couché sur le flanc, près de la surface. Les opercules se contractent spasmodiquement. Mort en 25 minutes.

Un troisième poisson est mis dans les mêmes conditions mais l'eau dans laquelle il nage contient du pentachlorophénol libre, à la dose de un centigramme par litre. Le poisson présente les mêmes symptômes et meurt en 34 minutes. Cette expérience montre que le pentachlorophénol est bien toxique par lui-même, et non par la soude que la dissociation ou l'action de l'acide carbonique de l'eau pourraient libérer.

Enfin, un autre poisson est mis dans une solution saturée à froid de pentachlorophénol. La concentration n'est pas bien forte (Jambon donne le chiffre de 0 gr 005 0/0 à 18°) et cependant la solution semble présenter une grande causticité : le poisson nage en tous sens, et cherche à sauter hors de l'eau. Puis ses mouvements se font de plus en plus désordonnés. Il nage sur le dos, sur le flanc. Survient la dernière phase : il est agité de tremblements convulsifs, des

nageoires notamment, et des opercules. Les tremblements eux-mêmes s'éteignent. La mort est survenue en quatre minutes

GRENOUILLES

Nos observations ont porté sur la grenouille verte (*rana esculenta*). Nous avons commencé nos essais par une dose qui s'est révélée trop forte (0 gr 05 par kilogramme d'animal); nous avons alors diminué progressivement jusqu'à obtention d'une dose non toxique.

VOIE HYPODERMIQUE. — Injection d'une solution très étendue, neutre et stérile, dans les sacs lombaires.

N ^o	Date	Poids	Dose Administrée	Dose par kilogr.	Résultat
		Grammes	Milligram.	Grammes	
1	29/6	40 gr.	2 milli.	0, 05	Paralyse du train de derrière. Prostration. Mort en 6 minutes.
2	30/6	45 gr.	2 milli.	0, 044	id. Mort en 20 minutes.
3	2/7	47 gr.	1 milli.	0, 021	id. Trémulations. Mort en 45 minutes.
4	2/7	35 gr.	0 m. 5	0, 014	id. Mort en 1 heure.
5	2/7	27 gr.	0 m. 25	0, 0032	Faiblesse et Trémulations. Mort en 25 minutes.
6	3/7	30 gr.	0 m. 20	0, 0066	id. Mort en 2 h. 40.
7	3/7	30 gr.	0 m. 10	0, 0033	Faiblesse. Survie.
8	3/7	25 gr.	0 m. 10	0, 004	id. Mort en 10 heures.

Dose toxique moyenne : = 0 gr. 00365 par kilogramme

VOIE GASTRIQUE :

N ^o	Date	Poids	Dose administrée	Dose par kilogramme	Résultats
		grammes	milligrammes	grammes	
9	25/10	50	0,2	0,004	Faiblesse peu marquée. Survie.
10	26/10	45	0,5	0,011	Rien.
11	26/10	45	1	0,022	Faiblesse. Survie.
12	8/11	50	2,5	0,05	Faiblesse et paralysie des pattes de derrière. Mort en 4 h.
13	8/11	35	1,5	0,042	id. Mort en 5 h. 30
14	8/11	40	1	0,025	Faiblesse. Survie.

Dose toxique moyenne : 0 gr. 033 par kilogramme

N. B. Nous avons fréquemment observé que les grenouilles expérimentées rejetaient au moins partiellement le produit que nous leur injectons cependant au moyen d'un compte-gouttes enfoncé dans l'œsophage.

Les phénomènes d'intoxication observés, plus ou moins intenses selon les doses administrées, peuvent tous être résumés dans ces deux observations ; la première faite le 29 juin 1923 sur une grenouille de 40 grammes injectée à la dose de 0 gr, 05 par kilogramme d'animal.

1° Au bout d'une minute, paralysie des membres postérieurs. Tirés en arrière, l'animal ne peut que difficilement les ramener sous lui. Bientôt, il est complètement incapable de les mouvoir. La faiblesse est générale.

2° Trémulations assez faibles, remarquées surtout dans les membres postérieurs.

3° Prostration qui dure jusqu'à la mort, survenue en six minutes.

La deuxième opération est faite le 3 juillet sur une grenouille injectée à la dose de 0 gr, 0066 par kilogramme :

Affaiblissement au bout de 20 minutes : la grenouille ne réagit plus aux coups frappés sur la table. Légères trémulations des pattes de derrières ; quand on les allonge de force, la grenouille les retire par saccades.

Au bout d'une heure, les trémulations s'accroissent, ainsi que la faiblesse, qui est extrême.

Ouverture de la ceinture scapulaire pour voir le cœur ; il bat normalement, puis s'affaiblit. Le rythme se ralentit ; à la fin, seules battent les oreillettes. La mort survient, 2 h. 40 après l'injection.

Les particularités révélées à l'autopsie sont les suivantes : (exemple grenouille n° 5, tuée par une dose de 0 gr. 0092 par kilogramme d'animal).

La région injectée est un peu plus colorée que les zones environnantes.

Le cœur est gros, dur, gorgé d'un sang noir. Le foie est congestionné, presque noir. Les reins sont normaux, de même que l'appareil digestif et le poumon.

En général, pour les doses supérieures à 0 gr. 015 par kilogramme, le foie est plus congestionné encore que pour des doses inférieures. Le sang est toujours noir.

COBAYES

Neuf cobayes ont été soumis à des doses variées de pentachlorophénol, dans le but de déterminer la dose minimales tant par voie hypodermique que par voie gastrique. Nous avons été guidé, dans l'administration des premières doses par les résultats que nous avons déjà obtenus lors de l'observation du phénomène d'accoutumance.

VOIE HYPODERMIQUE :

N	Date	Poids	Dose administrée	Dose par kilogramme	Résultats
		grammes	grammes	grammes	
1	21/9	420	0,033	0,08	Survie.
2	22/9	430	0,038	0,09	Survie. Faibl. polypnée.
3	25/9	600	0,06	0,10	Faiblesse du train de derrière. Polypnée. Survie.
4	26/9	415	0,041	0,10	id. Mort en 5 h. 15.
5	19/10	190	0,021	0,11	id. Mort en 3 h. 15.

Dose Toxique moyenne : 0 gr. 10 par kilogramme

VOIE GASTRIQUE :

N°	Date	Poids	Dose administrée	Dose par kilogramme	Résultats
		grammes	grammes	grammes	
6	26/9	425	0,051	0,12	Faiblesse, Dyspnée. Mort en 6 heures.
7	10/10	470	0,051	0,11	id. Mort en 6 h. 30
8	19/10	215	0,025	0,11	id. Mort en 4 heures
9	21/10	655	0,065	0,10	Légère dyspnée. Survie

Dose Toxique moyenne : 0 gr. 11 par kilogramme

Par cette voie, les symptômes sont plus lents à se manifester. Nous avons constaté que jamais un cobaye n'a vomi après administration de pentachlorophénol par voie gastrique.

Les symptômes observés sont les suivants (exemple cobaye n° 5, intoxiqué par 0 gr. 41 par kilogramme).

L'animal, aussitôt après la piqûre, se tient immobile sans manger. Une heure et demie après, il commence à manifester de la dyspnée. La respiration passe de 46 à la minute (normal) à 96 ; le pouls de 175 à 244. Bientôt la polypnée augmente : 120 ; le pouls de même : 260. Il devient alors difficile à percevoir à cause de sa fréquence, et à cause de la respiration. L'animal semble faible, il reste allongé, le train de derrière rejeté. Les pattes de derrière se paralysent ; elles sont allongées et l'animal, sous l'effet d'une excitation (pincement) ne les ramène sous lui qu'avec une très grande peine. Bientôt elles sont absolument inertes et le cobaye meurt 3 h. 1/4 après l'injection.

A l'autopsie, on constate une congestion générale des organes : le foie est noir, les reins sont fortement hyperhémisés, surtout dans la zone corticale. Le cœur est dur, plein d'un sang noir et épais. L'encéphale aussi est congestionné. Si l'autopsie n'est pas faite immédiatement après la mort, on trouve le sang entièrement coagulé.

CHIENS

L'injection hypodermique de pentachlorophénate de soude étant très douloureuse, comme nous avons tenu à l'éprouver sur nous-mêmes, nous avons été contraint d'immobiliser les chiens au moyen d'appareils de contention, mais nous ne les avons jamais anesthésiés.

VOIE HYPODERMIQUE :

N°	Date	Poids	Dose administrée	Dose par kilogramme	Résultats
		kilogram.	grammes	grammes	
1	18/8	7,500	1,125	0,15	Dyspnée. Faiblesse. Mort en 18 heures
2	31/10	6,100	0,73	0,12	id. Mort en 6 heures
3	13/11	16	1,60	0,10	id. Mort en 12 heures
4	5/12	11	0,55	0,05	id. Survie.
4	10/12	11	0,77	0,07	id. Mort en 21 h. env.
5	17/12	10	0,60	0,06	id. Survie.

Dose Toxique moyenne : 0 gr. 07 par kilogramme

VOIE GASTRIQUE :

N°	Date	Poids	Dose Administrée	dose par kilogramme	Résultats
		Kilogr.	grammes	grammes	
6	12/8	8	1,60	0,20	Polypnée. Faiblesse. Mort en 8 h. environ
7	17/8	15	2,25	0,15	Polypnée. Survie.

Dose toxique : Entre 0 gr. 15 et 0 gr. 20 par kilogramme

Pour l'administration, le sel est enfermé soit dans des capsules en gélatine, soit dans des cubes de viande que le chien happe. Mais comme le goût du pentachlorophénol est très mauvais, il faut que la surface externe des cubes ou capsules ne soit souillée d'aucune trace de produit : le chien a qui on a donné une « gobe » mal préparée la rejette et se méfie.

Les symptômes les plus caractéristiques que nous ayons observés sont les suivants :

Exemple : chien n° 6, ayant succombé à une dose de 1 gr. 60 par voie gastrique. — Le poison est administré à 14 heures dans une capsule en gélatine, l'estomac étant plein. A 15 heures, inquiétude ; aboiements. Le chien se

couche, et la dyspnée commence. A 15 h. 30, vomissement que le chien mange. A 16 heures, le chien mange un oiseau cru qu'on lui présente, mais sans grand appétit. A 16 h. 30, nouveau vomissement. A 17 heures, encore un vomissement. La polypnée est intense : 168 à la minute. A 20 h. 30, le chien vomit encore une fois. La respiration tombe à 144 à la minute, mais elle est plus entrecoupée, plus irrégulière. Le chien ne se lève pas. Mais, mis sur ses pattes, il peut encore marcher et descendre des escaliers. Il meurt vers 22 heures sans manifester d'autres symptômes.

Chien n° 2, ayant succombé à une dose de 0 gr. 73 administrée par voie hypodermique.

L'injection est faite à 9 heures, à la face interne de la cuisse droite. Deux heures après, apparition des premiers symptômes : Dyspnée. Le chien bave avec abondance. La respiration, de 17 à la minute, avant l'injection, est passée à 72. Le pouls, de 80. passe à 98. A 12 h. 45, le chien a ces symptômes accrus : Respiration 136, cœur 130. A 13 h. 45, la polypnée est à son maximum : 148, et le cœur est à 126. Le chien meurt à 15 h. 7, après avoir poussé quelques faibles aboiements, sans que la polypnée ait diminué.

Les symptômes révélés par l'autopsie sont les suivants : (exemple, chien n° 2, autopsie pratiquée par M. Barral).

Région de l'injection : hyperhémie, avec suffusions sanguines. Lésion probable d'un petit vaisseau

Poumon : très hyperhémie. Couleur très sombre. Le sang du poumon est noir. Pas de cirrhosités des alvéoles ni des bronchioles. Le poumon est beaucoup plus noir à la périphérie qu'au centre.

Cœur : En éréthisme. De gros caillots dans les oreil-

lettes, et beaucoup de petits dans les ventricules. Le sang est presque entièrement coagulé dans les vaisseaux.

Foie : Gorgé de sang.

Pancréas : Normal.

Estomac : contracté, rempli de mucosités, hyperhémie dans la partie inférieure de la grande courbure, qui est contractée.

Intestin grêle : Normal. Le bol alimentaire est déjà presque complètement liquéfié.

Reins ; Très congestionnés, surtout dans la zone corticale.

Encéphale : Congestionné.

Chats. — Nous ne mentionnons que deux essais faits sur des chats, au hasard de nos captures. Celles-ci ont été tôt limitées. De plus, l'injection d'un produit très douloureux à de tels animaux ne va pas sans inconvénient pour l'expérimentateur ; nous avons été obligé de soumettre les chats à une anesthésie rapide, qui durait le temps de l'injection. Cependant, si nous n'avons pu établir de dose toxique limite pour ces animaux, tout au moins l'observation des effets de l'intoxication a-t-elle bien confirmé les symptômes déjà connus :

Chat 2 kgr. injecté à la dose de 0 gr. 15 par kilogramme. Respiration 40. 3 heures après, respiration 144. Brusquement, la polypnée s'accroît : 228 à la minute. Inquiétude, irritabilité. Mort en 5 heures.

Chat 3 kgr. 450. Injecté à la dose de 0 gr. 12 par kilogramme à 7 h. 20. A 9 h. 30, pas de phénomène d'intoxication (respiration = 30 à la minute). A 10 heures, dyspnée. La respiration est de 53 à la minute. A 10 h. 15 : Respiration = 102 — A 10 h. 30. Respiration = 224.

Elle se régularise. Quelques minutes plus tard, commence une période de rémission. Mais la dépression est grande. La respiration est de 192. A 14 heures la respiration, quoique précipitée (216 à la minute) est devenue très régulière.

Mort à 14 h. 20. en 7 heures, sans phénomènes particuliers.

Poules. — Ce n'est que bien fortuitement et contre notre gré que nous avons eu à nous occuper d'intoxications d'oiseaux par le pentachlorophénol. Au mois d'août, un chien auquel nous avons administré par voie gastrique 2 gr. 25 de produit, était attaché à un grillage dans une grande cour où nous-même étions installé, notant nos observations. Le chien avait déjà vomi deux fois. Nous dûmes abandonner quelques instants notre faction. Les poules du voisinage, que notre présence n'effarouchait plus, vinrent picorer ce que ce chien avait rejeté, et le lendemain le jardinier de la propriété vint nous annoncer le malheur qui frappait sa basse-cour: le matin avant d'ouvrir son poulailleur, il avait trouvé une poule morte. Une autre gisait à terre, tombée de son perchoir, les plumes ébouriffées, et ne se tenait qu'avec peine sur ses pattes. Celle-ci survécut.

CONCLUSION. — Les chiffres que nous avons trouvés font ressortir que pour la grenouille le pentachlorophénol est 35 fois plus toxique que le phénol. Pour le cobaye, il est 5 fois plus toxique; pour le chien, il est 35 fois plus toxique. Comparés entre eux, un chiffre montre que le pentachlorophénol est 25 fois plus toxique pour la grenouille que pour le cobaye, et 17 fois plus que pour le chien.

Cette toxicité est donc bien supérieure à celle du phénol, contrairement à l'affirmation de Binet, cité par Kunkel;

« D'après Binet, pour les dérivés chlorés des phénols, la toxicité est plus faible que celle de la substance-mère. . . ». Par contre, nos observations sont conformes à ce que disent Bechold et Ehrlich, qui n'ont, il est vrai, opéré que sur le rat blanc : « . . . La toxicité diminue d'abord, puis égale celle du phénol pour le trichloro et le tribromo, et s'élève avec le tétrachloro et pentachlorophénol. » — Le travail de M. P. Guillot sur le tétrachlorophénol, exécuté en même temps que le nôtre, indique pour ce corps une toxicité supérieure à celle du phénol, mais un peu inférieure à celle du pentachlorophénol.

ACTION DE DOSES FAIBLES ET RÉPÉTÉES

Nous avons cherché, en opérant sur des cobayes, s'il y a accoutumance.

Première expérience. = Cobaye N° 10. Administration de doses croissantes, par voie hypodermique.

N°	Date	Poids	D. injectée	Dose par k.	Résultats
		Grammes	Grammes	Grammes	
	17/7	780	0,01	0,013	Appétit très diminué.
	19/7	700	0,02	0,03	id.
	25/7	670	0,04	0,059	id.
	27/7	670	0,06	0,089	Faiblesse.
	29/7	600	0,08	0,13	Polypnée, faiblesse.
	31/7	580	0,10	0,17	Polypnée. Paralysie du train de derrière Spasme. Mort 24 heures après l'injection.

Autopsie. — Régions des injections : derme corrodé, cœur très dur, plein de sang noir. Foie : très altéré. Plaques pâles alternant avec de grandes taches noires. L'aspect général est marbré. Des endroits sont gorgés de sang et paraissent rouge vif. Reins : très gras. Surrénales hypertrophiées. Débarrassés de leur capsule grasseuse, les reins

se présentent tous deux d'aspect très rouge, mouchetés de noir, et tout noirs à la partie inférieure. La section confirme les mêmes caractères : infiltrations sanguines, congestion de la zone corticale.

Deuxième expérience. — Cobaye N° 11 Administration par voie hypodermique, de doses constantes confinant à la dose toxique.

Date	Poids	dose injectée	dose par kilogramme	Résultats
	grammes	grammes	grammes	
21/9	420	0,033	0,08	Faiblesse et polypnée.
26/9	410	0,041	0,10	Grande faiblesse et dyspnée.
28/9	400	0,04	0,10	id.
30/9	360	0,036	0,10	Prostration et dyspnée intense
2/10	350	0,035	0,10	Mort en 10 heures.

Autopsie. — Régions des injections : fortes lésions intéressant le derme. Cœur : très dur, plein d'un sang noir épais. Poumons : congestionnés. Appareil digestif : normal. Foie : très congestionné, grande zone décolorée vers la vésicule. Reins. très lésés : Rein gauche : partie supérieure très foncée présentant des marbrures. Partie inférieure de teinte cireuse. Rein droit : entièrement marbré de brun foncé sur fond de teinte normale.

Troisième expérience. — Cobaye N° 13. Nous avons voulu voir si l'animal présenterait de l'accoutumance après administration de nombreuses et faibles doses par voie gastrique.

A 24 heures d'intervalle, pendant 16 jours, l'animal, qui au début pesait 500 grammes, reçoit 0 gr. 01 par kilogramme. Le 16^e jour, son poids est de 470 grammes : Le 17^e jour, nous lui administrons 0 gr, 06 de pentachloro-phénol, ce qui correspond, pour son poids (465 grammes)

à 0 gr. 13 par kilogramme. L'animal présente un peu de faiblesse, une légère dyspnée, et il se rétablit rapidement. 48 heures après, il reçoit une nouvelle dose de 0 gr. 07, ce qui correspond à 0 gr. 15 par kilogramme. Le cobaye présente de l'affaiblissement et de la dyspnée. 12 heures après, il va beaucoup mieux. Il mange avec avidité. Tout semble être revenu dans l'ordre, quand il est trouvé mort 48 heures après l'administration de toxique. Nous n'avons pu l'autopsier.

Dans la première expérience, le cobaye a supporté une dose totale de 0 gr. 31, répartie en 6 injections espacées de 48 heures, sauf entre la deuxième et la troisième où il y a un intervalle de 6 jours. Après quatre injections à doses nettement inférieures à la dose mortelle, le cobaye supporte une dose de 0 gr. 13 par kilogramme, c'est-à-dire supérieure de 0 gr. 03 par kilogramme à la dose mortelle. Il succombe, mais en 24 heures, à une dose de 0 gr. 17 par kilogramme.

Dans le second cas, un cobaye, après l'administration d'une seule dose de 0 gr. 08 par kilogramme, a pu supporter trois injections faites à la dose mortelle, à 48 heures d'intervalle. Au total, ce cobaye a supporté sans mourir 0 gr. 15 de produit, soit en moyenne 0 gr. 38 par kilogramme.

Enfin, nous avons voulu voir, dans une dernière expérience, comment se comporterait un animal ayant acquis une accoutumance par administration gastro-intestinale, si on lui faisait subir par voie hypodermique une faible dose de produit.

Un cobaye, du poids de 540 grammes, reçoit le 10 décembre 0 gr. 016 (1 cm³, 6 de solution à 1 0/0) de pentachlorophénol par voie gastrique, ce qui correspond à 0 gr. 03 par kilogramme. Le lendemain, il reçoit la même dose par kilogramme, toujours par voie gastrique. Puis les trois

jours suivants, il reçoit 0 gr. 025 par kilogramme. Enfin, le 15 décembre, il recoit 1cm³ de solution au 125^e par voie hypodermique. Cette injection correspond à une dose de 0 gr. 008, soit 0 gr. 017 par kilogramme, car le cobaye ne pèse alors plus que 450 grammes. Il meurt en 20 heures environ, sans symptômes très accentués, si ce n'est une assez grande faiblesse et une légère dyspnée.

Le cas d'un animal, qui, accoutumé par voie gastrique, ne peut supporter, par voie hypodermique, une dose cependant très inférieure à la dose mortelle (0 gr. 017 contre 0 gr. 40 par kilogramme) confirme bien les faits remarqués et cités par Cloetta au sujet de l'accoutumance.

Effets Physiologiques

Les effets physiologiques imputables au pentachlorophénol sont, dans toute la série d'animaux expérimentés, résumables en ces observations :

1^o Rapidité de l'action.

L'action du produit est assez rapide, et plus par voie hypodermique que par voie gastrique. Les premiers symptômes apparaissent au bout d'une demi-heure à trois heures. La mort survient en trois heures, quelquefois douze, une seule fois la mort est survenue en vingt et une heures.

2^o Affaiblissement.

On observe toujours un affaiblissement marqué du sujet.

3^o Paralysie des membres postérieurs.

La paralysie des pattes de derrière, plus ou moins marquée chez le cobaye, est courante chez la grenouille, nous ne l'avons pas observée chez le chien.

4^o Trémulations.

Les trémulations, qui sont toujours observées avec les

mono et dichlorophénols, sont très faibles avec le penta, et nous ne les avons jamais observées que chez la grenouille.

Répétant les expériences de Binet, privat-docent de l'université de Genève, sur les O. et P. chlorophénols, nous avons cherché si l'action du toxique s'exerçait sur les centres nerveux. Pour cela, nous avons préparé une grenouille comme pour étudier l'action du curare, et l'avons injectée à la partie antérieure du corps avec 2 milligrammes de pentachlorophénate de soude. Au bout de 4 minutes, les pattes de derrière sont paralysées et sont le siège de trémulations assez accentuées. On peut conclure de cette expérience que les trémulations et la paralysie sont d'origine centrale.

5° Action sur la respiration et sur la circulation.

Voulant étudier d'une façon plus approfondie l'action du pentachlorophénol sur la respiration et le cœur, nous avons opéré sur des chiens, au laboratoire de physiologie de la Faculté de Médecine. Quatre chiens ont été expérimentés en vue de la prise des tracés de la pression artérielle et de la respiration. Il leur a été fait des injections intraveineuses de quantités croissantes de pentachlorophénol sous forme de sel de soude en solution au dixième, diluée dans trois fois son volume de serum physiologique. Nous avons constaté deux fois une baisse de pression de médiocre importance, et une fois une baisse suivie immédiatement d'une remontée de pression dépassant de trois centimètres la pression normale. La quatrième expérience n'a pas été réussie, le chien ayant succombé deux minutes après l'injection qui était trop forte (0 gr. 018 par kilogramme, alors que la voie mortelle est de 0 gr. 012). Néanmoins elle confirma ce que nous avons déjà constaté : en cas de mort provoquée par le pentachlorophénol, le cœur et la respiration s'éteignent en même temps.

Pour ce qui est de la respiration, un seul des tracés permet de voir le brusque début de la polypnée, 10 minutes après l'injection.

Les animaux intoxiqués présentent de la dyspnée ; le sang, à l'autopsie, est noir. Ces phénomènes ne semblent pas devoir être assimilés à une manifestation de phénomènes asphyxiques. En effet, au moment de l'agonie, nous n'avons jamais constaté que le patient présentât un faciès asphyxique ; les gencives sont de coloration normale. De plus, l'oxygène est sans effets curatifs sur le sujet intoxiqué.

Un cobaye, du poids de 450 grammes, a été injecté avec une solution contenant 0 gr. 05, soit sensiblement 0 gr. 11 par kilogramme. Une heure après l'injection, l'animal manifeste les premiers symptômes d'intoxication : faiblesse, dyspnée. Nous l'enfermons dans un grand récipient en verre, une sorte de bocal à très large ouverture dont le bouchon est traversé par deux tubes : l'un amène de l'oxygène qui a passé dans un barboteur à eau pour qu'il n'arrive pas trop desséché, et dans un brûleur de Bunsen : la virole, plus ou moins tournée, permet de mélanger plus ou moins d'air l'oxygène envoyé dans l'appareil. Le second des tubes qui traversent le bouchon sert à la sortie des gaz. Malgré l'oxygène, les symptômes continuent, inchangés. La polypnée augmente ; nous augmentons la teneur en oxygène du mélange insufflé en agissant sur la virole du brûleur de Bunsen intercalé entre le barboteur et la cage. La polypnée continue, elle augmente même encore un peu. Bientôt, l'agonie est imminente, et c'est de l'oxygène pur qui est envoyé au cobaye. Il meurt 2 h. 5' après l'injection.

6. Action sur la température.

Nous avons observé que la température des chiens expérimentés au laboratoire de physiologie baissait pendant le

cours des expériences. Il ne doit pas être tenu compte de ces observations, car les chiens étaient anesthésiés. Nous avons tenu à nous rendre compte, sur des animaux non anesthésiés, de l'action qu'exerce le pentachlorophénol sur la température.

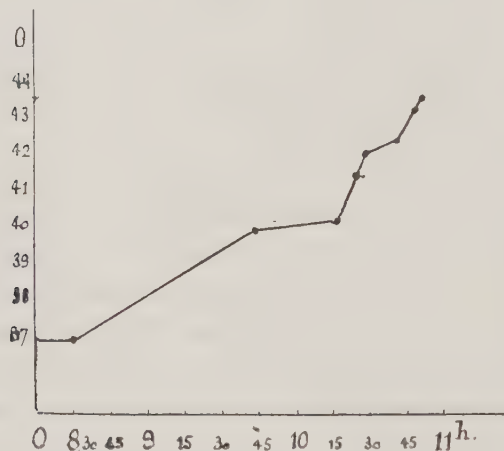
Un cobaye, pesant 450 grammes, reçoit le 15 décembre une injection hypodermique de 0 gr. 05 de pentachlorophénol, correspondant à-peu-près à 0 gr. 11 par kilogramme. La température rectale normale de l'animal, juste avant l'injection, est 37°, 4. Elle est à 37,5 un quart d'heure après. A ce moment se déclarent les premiers symptômes de l'intoxication : faiblesse et polypnée. Le thermomètre révèle alors une température rectale de 38°1. Les symptômes s'aggravent, et l'animal a sa température augmentée : 39° trois quart d'heure après l'injection. Au bout d'une heure, l'animal est mort, en accusant une température à 40°2.

Le 8 février 1924, un cobaye pesant 930 grammes est injecté avec une solution contenant 0 gr. 12 de pentachlorophénol, correspondant à 0 gr. 0126 par kilogramme. L'injection est faite à 9 h. 30, la température de l'animal est 37°. A 9 h. 45, la température est 40°1. A 10 h. 20, elle est 40°4, la respiration est alors de 188 à la minute. Prévoyant un dénouement prochain, nous prenons alors plus fréquemment la température.

10 h. 27	température	41°, 6
10 h. 30	»	42°, 1
10 h. 40	»	42°, 5
10 h. 48	»	43°, 2
10 h. 50	»	43°, 5

Nous ne pouvons plus suivre l'élévation de température à partir de ce moment, notre thermomètre n'étant pas gradué plus haut que 43°, 5. Le cobaye meurt à 10 h. 53.

Nous avons pu établir le graphique suivant indiquant l'élévation de température du sujet au cours de l'intoxication. Cette élévation de température est assez inattendue, car les dérivés du benzol passent tous pour produire de l'hypothermie (Henrijean).



N° 1

Examen spectroscopique. — Nous avons pratiqué l'examen spectroscopique du sang d'animaux venant de succomber au pentachlorophénol. Malgré la couleur noire de ce sang, cet examen ne nous a jamais révélé que de l'oxyhémoglobine.

Examen histologique. — M. Paupert-Ravault a bien voulu nous transmettre le résultat suivant, très voisin, du reste, de celui observé sur des sujets ayant succombé au tétrachlorophénol : Pas de lésions au rein. Par contre, lésions hépatiques faibles. Cellules hépatiques volumineuses, à protoplasme très acidophile. Quelques unes de ces cellules sont groupées en amas, la plupart sont isolées.

**§ 2 Détermination de la dose toxique minimale
pour la levure de bière, pour divers
micro organismes et effets sur la germination
de quelques plantes**

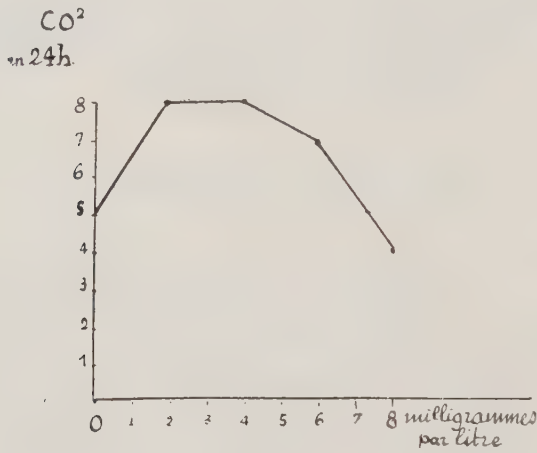
1° Action sur la levure de bière

Dispositif.— A des tubes à essai de 20 cm³ de contenance moyenne, nous avons adapté des bouchons fermant bien traversés par des tubes en U. Nous avons fait en sorte que le tube dépasse légèrement la surface du bouchon à l'intérieur du tube ; de la sorte, le mouvement du liquide chassé par la pression de l'anhydride carbonique dégagé, n'entraîne pas au dehors la levure qui se dépose en grande partie sur le bouchon, par l'effet de la pesanteur.

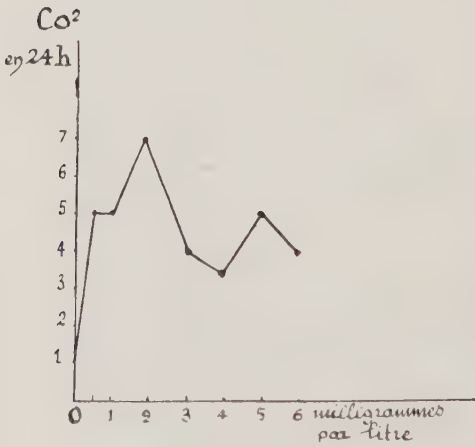
Dans chaque tube, nous avons mis trois gouttes d'une émulsion de levure préparée au moment de l'expérience ; puis nous avons ajouté 15 cm³ de solution de pentachlorophénol sous forme de sel de soude, contenant, en plus de l'antiseptique, 1 0/0 de glucose. Grâce à ce mode opératoire, dans chaque tube, pour 15 cm³ de liquide, la quantité de levure est la même, ainsi que la quantité de glucose. Pour vérifier l'importance du dégagement gazeux, on mesure avec une éprouvette graduée le liquide restant dans le tube, et on soustrait le chiffre obtenu de 15. En général, dans nos expériences, les tubes étaient mis à l'étuve à 38-40° ; quelquefois ils étaient laissés à la température du laboratoire, engagés dans des porte-tubes, le bouchon en bas.

Nous avons observé que des doses faibles provoquent

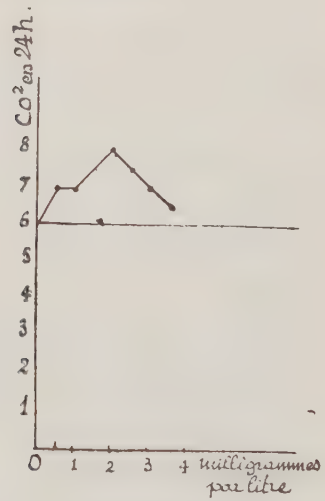
une excitation du pouvoir de la levure. L'excitation maxima a lieu pour la dose de 2 milligrammes par litre.



N° 2

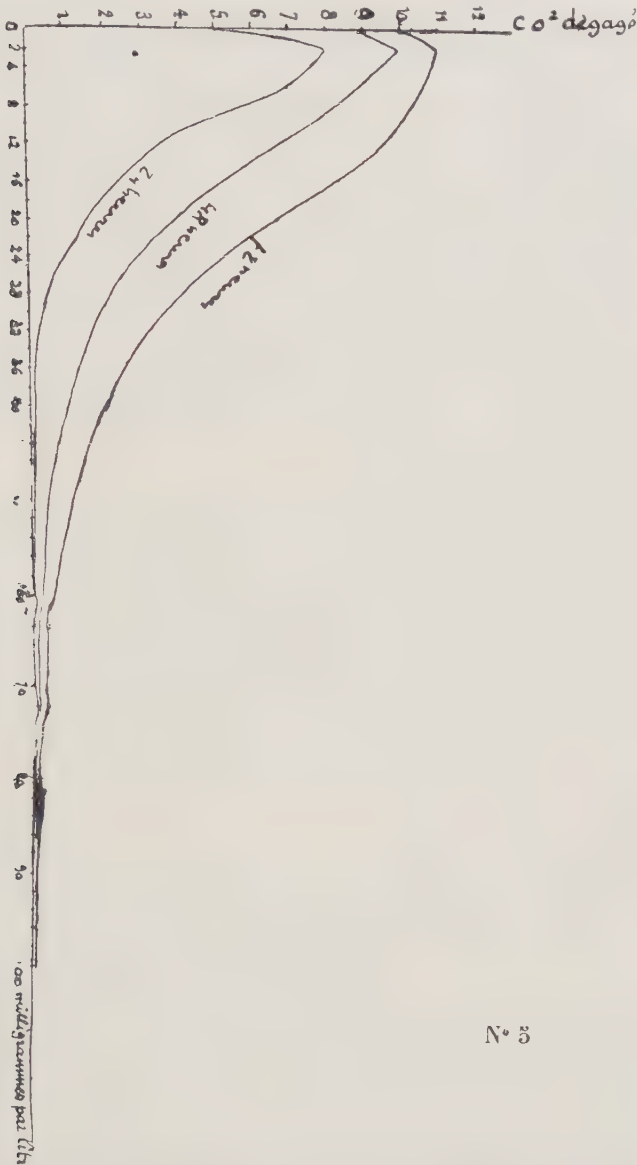


N° 3



N° 4

La moyenne des résultats de nos observations peut être exprimée par la courbe suivante :



N° 5

La dose toxique est localisée entre 70 et 100 millig. par litre

2 Action sur le colibacille

A. Détermination de la dose antiseptique par action directe du pentachlorophénol sur bouillon ensemencé

Les essais portent sur 2 cm³ de bouillon contenant e pentachlorophénol en solution sous forme de sel de soude et ensemencé par une goutte de culture de 24 heures sur bouillon. Les tubes sont mis à l'étuve et on reconnaît ceux où le bacille n'a pas été tué à ce que le bouillon se trouble au bout d'un temps variable.

1^{er} essai : le 12 décembre 1923. Température : 35°.

24 heures 48 heures 96 heures

2.000 milligrammes par litre	—	—	—
1.500 " "	—	—	—
1.000 " "	—	—	—
témoin	+	+	+

2^e essai : le 17 décembre 1923. Température : 34°

24 h. 48 h. 72 h. 96 h. 6 jours

1.000 milligram. par litre	—	—	—	—	—
750 " "	—	—	—	—	—
500 " "	+	+	+	+	+
250 " "	+	+	+	+	+
témoin	+	+	+	+	+

3^e essai : le 19 décembre 1923. Température 33°

24 heures 48 heures 72 heures 96 heu.

625 milligr. par litre	+	+	+	+
750 " "	—	—	—	—
1.000 " "	—	—	—	—
témoin	+	+	+	+

La dose toxique est donc 750 milligrammes par litre

B. Détermination de la dose antiseptique agissant en 15 minutes

Des dilutions de pentachlorophénol dans l'eau stérilisée sont ensemencées avec le même nombre de gouttes d'une culture de 24 heures de colibacille. On fait des subcultures en prélevant aseptiquement au bout de 5, 10, 15, 30 minutes, deux gouttes qu'on laisse tomber dans quelques centimètres cubes de bouillon stérilisé. Ces subcultures sont portées à l'étuve à 35°, et on observe celles qui poussent. Comme on opère en comparaison avec un témoin, on peut ainsi noter le temps nécessaire pour tuer le microbe, et le retard apporté au développement du bacille, dans le cas d'une dose non mortelle.

1^{er} essai : Le 4 décembre 1923.

On a ensemencé deux tubes (A et B) contenant chacun 10 cm³ de solution de pentachlorophénol (sel de soude), aux dilutions de 100 et 200 milligrammes par litre, avec VI gouttes de culture de 24 heures. Puis on a établi des subcultures, comme il a été expliqué plus haut.

A. Dilution à 100 milligrammes par litre.

Subcultures établies au bout de : 5, 10, 15, 20, 30 et 60 minutes

Mises à l'étuve à 37°, toutes ces subcultures, ainsi que le témoin, présentent un développement positif.

2^e essai : Le 21 décembre 1923.

A. Dilution à 1000 milligrammes par litre.

Subcultures établies au bout de 5, 15, 30 et 60 minutes.

Au bout de 24 heures d'étuve à 35°, toutes ces subcultures sont négatives, tandis que le témoin pousse. Il en est de même après 8 jours.

B. Dilution à 750 milligrammes par litre.

Subcultures établies au bout de 5, 15, 30 et 60 minutes.

Toutes ces subcultures, observées au bout de 24 heures, 6 et 8 jours, sont négatives, tandis que le tube témoin est positif.

3^e essai : Le 10 janvier 1924.

A. Dilution à 500 milligrammes par litre.

Subcultures établies au bout de 5, 10, 15 et 30 minutes.

Nous avons constaté, après 24 heures, que le témoin et les subcultures établies au bout de 5 et 10 minutes étaient positifs. Les subcultures établies au bout de 15 et 30 minutes étaient négatives. La situation était la même après 48 et 96 heures d'étuve à 37°.

B. Dilution à 650 milligrammes par litre.

Subcultures établies au bout de 5, 10, 15 et 30 minutes.

Après 24 heures d'étuve à 37°, le témoin et la subculture établie au bout de 5 minutes étaient seuls positifs. De même après 48 et 96 heures d'étuve.

*La dose toxique en 15 minutes est donc 500 milligrammes
par litre*

3^o Action sur le Staphylocoque doré

Pour le colibacille, nous n'avons opéré nos essais sur la valeur antiseptique du pentachlorophénol, agissant en 15 minutes, qu'en milieu aqueux, parce que l'habitat normal du bacillus coli est l'eau, et c'est dans l'eau que la désinfection cherche à l'atteindre dans la pratique. Mais pour le staphylocoque, vu son habitat pathologique, nous avons cru intéressant d'étudier l'action antiseptique du pentachlorophénol en milieu albumineux. Nous avons rapproché ce résultat de celui obtenu en faisant agir le toxique sur ce microbe en milieu aqueux.

Le milieu albumineux que nous avons employé est un mélange à parties égales d'eau et de serum de cheval stérilisés.

1^{er} essai : Le 4 février 1924. Milieu serum.

Nous avons mis dans 5 tubes à essai 1 cm³ d'eau distillée stérilisée additionnée de pentachlorophénate de soude à des concentrations différentes. Nous avonsensemencé, avec une culture de 24 heures de staphylocoque sur bouillon, du serum de cheval stérilisé. Après agitation, nous avons ajouté 1 cm³ de ce serum au 1 cm³ d'eau additionnée d'antiseptique contenu dans chacun des tubes. La quantité d'antiseptique de ces tubes correspondait, pour 4 cm³ de liquide, à des concentrations de 750, 1000, 1250, 1500 et 2000 milligrammes par litre, évalués en pentachlorophénol.

Au bout de 15 et 60 minutes, nous avons établi des subcultures avec le contenu de chacun de ces tubes. Portées à l'étude à 37°, ces subcultures, examinées après 24, 48 et 72 heures, se sont affirmées négatives tandis que le témoin poussait. Ce témoin était constitué par un tube contenant parties égales d'eau et de serum stérilisés,ensemencés d'une goutte de culture en bouillon.

Nous avons conclu que la dose toxique en 15 minutes était inférieure à 750 milligrammes par litre.

2^e essai : le 6 février 1924. Milieu sérum.

Opéré dans des conditions identiques, cet essai pratiqué sur des concentrations de 750, 500, 250 et 100 milligrammes par litre, nous a montré, toutes les subcultures étant négatives, que la dose toxique en 15 minutes était inférieure à 100 milligrammes par litre.

3^e essai : le 11 février 1924. A. milieu aqueux ; B. milieu sérum.

A. Cet essai a été opéré sur des concentrations de 12,5, 25, 50, 75 et 100 milligrammes par litre.

Après 16 heures d'étuve à 37°, les subcultures établies au bout de 15 minutes étaient positives pour les trois premiers tubes et le témoin, négatives pour les deux derniers tubes (75 et 100 milligrammes par litre). Les subcultures établies au bout de 60 minutes étaient également positives pour les trois premiers tubes, et négatives pour les deux derniers.

B. Essai opéré sur des concentrations de 12,5, 25, 50, 75 et 100 milligrammes par litre.

Toutes les subcultures établies au bout de 15 minutes sont positives ainsi que le témoin. Celles établies au bout de 60 minutes sont également positives, exception faite pour celle correspondant à la concentration de 100 milligrammes par litre.

De ces essais, nous tirons la conclusion que la dose toxique en 15 minutes est, pour le staphylocoque, aux environs de 65 milligrammes en milieu aqueux, et de 100 milligrammes en milieu sérum.

Remarque. — Bechold et Ehrlich, publiant en 1906 (Zeitschr. für physiol. Chem.) leurs observations sur le pouvoir bactéricide du phénol et de ses dérivés halogénés, arrivent à cette conclusion que le pentachlorophénol est environ 50 fois plus antiseptique que le phénol. Leurs expériences ont porté sur le bacille de la dysentérie.

Pour tuer en 15 minutes des microbes de la classe du staphylocoque, il faut 2 à 4 grammes de phénol par litre, en milieu aqueux. (Dakin et Dunham). Dans les mêmes conditions, nous avons vu qu'il ne faut que 0 gr. 075 de pentachlorophénol par litre. Le pouvoir antiseptique de ce dernier est donc environ 40 fois plus fort que celui du phénol. En milieu sérum, alors qu'il faut 10 à 20 grammes de phénol par litre, nous avons vu qu'il ne faut que 0 gr. 10 de pentachlorophénol. Dans ces conditions, le pentachlorophénol est donc 150 fois plus antiseptique que le phénol. Cela tient probablement à ce que le pentachlorophénol ne coagule pas les albuminoïdes. Pour le colibacille, en milieu aqueux, Dakin et Dunham donnant le chiffre de 8 grammes de phénol par litre, pour tuer ce microbe en 15 minutes. Avec le pentachlorophénol, le même résultat est obtenu à la dose de 0 gr. 500. Ce dernier est donc, dans ce cas particulier, 16 fois plus antiseptique que le phénol. Les observations que M. P. Guillot a faites sur le tétrachlorophénol nous permettent de constater que celui-ci est environ 2 fois moins antiseptique que le pentachlorophénol.

De la sorte se trouve vérifiée dans une certaine mesure, l'affirmation de Bechold et Ehrlich : « La comparaison ne peut être correcte avec les poids, mais avec les molécules. Par exemple, s'il faut 1.000 molécules de phénol pour le même effet il faut 16 molécules de tétrachloro et 7 de pentachlorophénol.

4° Action sur la germination de quelques plantes

Dans des soucoupes nous avons mis du sable de Fontainebleau que nous avons imprégné de solution de pentachlorophénate de soude. Sur ce sable, nous avons disposé des semences de sarrazin, blé, lentille, navette. Nous avons mis le tout à l'étuve à 35-40° en maintenant constant, par addition d'eau en quantité voulue pour remplacer celle perdue par évaporation, le poids des soucoupes.

Nous avons observé que le pentachlorophénol empêche ou ralentit, selon la concentration, la germination de ces graines; au surplus, il tue le germe une fois sorti.

A la concentration de $\frac{1}{1000^e}$ aucune graine ne germe.

A la concentration de $\frac{1}{2000^e}$ le sarrazin et la navette germent, mais le germe est tué alors qu'il ne présente qu'une longueur de 1 à 2 millimètres.

A la concentration de $\frac{1}{3000^e}$ le sarrazin pousse faiblement 8 0/0 des embryons poussent, mais végètent. Leur croissance ne dépasse pas 8 millimètres.

A la concentration de $\frac{1}{4000^e}$ le sarrazin et la lentille poussent quoiqu'ils soient en retard de 48 heures sur les témoins. Jamais ils n'atteignent le développement de ces derniers.

La navette et le blé ne poussent qu'à des concentrations supérieures à $\frac{1}{7000^e}$.

Nous n'avons pas constaté que de très faibles doses activassent la germination.

DEUXIÈME PARTIE

Recherche du Toxique

§ 1. Réactions. Leur sensibilité

Méthodes de recherche du toxique

Nous indiquons brièvement dans ce paragraphe les réactions du pentachlorophénol auxquelles nous avons eu recours dans nos recherches du toxique dans les organes et excréta d'animaux empoisonnés.

Parmi toutes les réactions que nous avons expérimentées au début de nos recherches, seulement quelques-unes nous ont paru présenter une sûreté, une spécificité et une sensibilité suffisantes. C'est ainsi que celle obtenue au moyen du réactif de Millon, quoique la plus sensible de toutes celles que nous ayons observées, ne présentait pas une spécificité suffisante dans les conditions où nous opérons : nous n'en avons jamais tenu compte.

1^o Réactions d'oxydation.

Les conditions de l'oxydation des chlorophénols ont été étudiées d'une façon approfondie par M. E. Barral. L'oxydation par l'acide azotique, ajouté à raison d'une partie pour deux de solution étendue de pentachlorophénol ou de pentachlorophénate de soude (condition habituellement réalisée dans sa recherche dans les tissus et excréta) produit à chaud, autour de la température et de l'ébullition, une belle

coloration rouge ou rouge-orangée, avec un ménisque rouge-cerise.

Sensibilité : $\frac{1}{30.000^e}$. A $\frac{1}{40.000^e}$, ou perçoit encore une vague coloration, jusqu'à la concentration de $\frac{1}{10.000^e}$ on perçoit une odeur de chloropicrine.

2° Réactions de précipitation.

a) Par le nitrate d'argent. Deux gouttes de nitrate d'argent N/10 ajoutées 3 à 4 cm³ de solution de pentachlorophénol ou de son sel de soude donnent à froid un précipité jaune-orangé de pentachlorophénate d'argent. Ce précipité se forme lentement aux grandes dilutions.

Sensibilité : $\frac{1}{60.000^e}$

b) par le sulfate de cuivre. Une goutte de solution de sulfate de cuivre à 1 0/0 ajoutée à 3 ou 4 cm³ de solution de pentachlorophénol ou de son sel de soude donne à froid un précipité brun de pentachlorophénate de cuivre.

Sensibilité : $\frac{1}{40.000^e}$

c) par le chlorure mercurique. Donne un précipité jaune clair.

Sensibilité : $\frac{1}{12.000^e}$

d) par un acide. Un acide minimal, ajouté à une solution de pentachlorophénol à l'état de sel de soude précipité le pentachlorophénol très peu soluble dans l'eau. Un acide fort (HCl par exemple) ajouté à une solution aqueuse saturée de pentachlorophénol donne également un précipité blanc floconneux très appréciable : le pentachlorophénol semble encore moins soluble dans l'eau acidifiée que dans l'eau distillée.

Sensibilité : $\frac{1}{10.000^e}$

Méthodes de recherche du toxique

Nos premières recherches ont porté sur de l'urine, des matières fécales, du tissu musculaire et glandulaire d'animaux sains, auxquels nous avons incorporé de faibles quantités de pentachlorophénol. Cela nous a permis de mettre au point et de comparer plusieurs procédés, et d'en apprécier la sensibilité. Nous avons été à même alors d'opérer sur des tissus et excréta d'animaux intoxiqués.

Tout d'abord, nous nous sommes efforcés de retirer le poison par épuisement à l'alcool fort, ou au benzène de l'extrait sec. Cet extrait était fait dans le vide et à basse température. La grande difficulté est de séparer le pentachlorophénol des pigments que dissolvent les solvants organiques. Cette méthode, longue et assez délicate, ne présente pas les conditions de sensibilité requises dans la majorité des cas.

Le procédé de choix est celui qui consiste à entraîner le pentachlorophénol par la vapeur d'eau. L'appareil consiste en un générateur constitué par un ballon, qui envoie un courant de vapeur, par un tube deux fois recourbé dont l'extrémité touche presque la paroi interne inférieure d'un ballon. Ce ballon est relié d'autre part à un réfrigérant descendant. Le produit à examiner est mis dans le ballon, pulvé s'il y a lieu et étendu d'eau, et additionné de 20 0/0 d'acide sulfurique. Il est porté lentement à une température voisine de celle de l'ébullition, et on fait passer la vapeur d'eau. On recueille 30 à 40cm³ de distillat, en 3 ou 4 portions de 10cm³.

Ordinairement, ce distillat est trouble et contient des particules en suspension. Quand la proportion de pentachlorophénol est forte, le distillat est laiteux. Ce liquide est filtré à l'entonnoir à vide Büchner de 4 cm. 5 de diamètre. Filtrat et filtre sont examinés à part. On peut pratiquer

directement les réactions sur le filtrat, ou bien le concentrer dans le vide à faible température. Quant au filtre, il est lavé modérément à l'eau distillée, puis il est mis dans un verre de Bohème de 5 cm de diamètre : il en occupe juste le fond. 3 gouttes de soude N/10 sont ajoutées à 5 cm³ d'eau distillée, et le tout, versé sur le disque du papier-filtre, est porté doucement à l'ébullition. On filtre au Büchner pour séparer les substances non dissoutes s'il y en a, et les particules de papier filtre que l'ébullition a détachées. En présence de papier tournesol très sensible (nous nous sommes servis de Lakmus papier de Kahlbaum), on ajoute très lentement de l'acide sulfurique N/10, de façon à obtenir un liquide aussi voisin que possible de la neutralité. C'est sur ce liquide qu'on fait les réactions.

Bien souvent, opérant sur des quantités extrêmement faibles de pentachlorophénol, nous avons opéré la dissolution des particules sur filtre par quelques gouttes d'eau distillée très faiblement alcalinisée ; les réactions sont alors faites, réduites au nombre des plus caractéristiques, dans des verres de montre. Nous avons quelquefois compté comme positives des recherches au terme desquelles seule a été positive la réaction au nitrate d'argent. Celle-ci est très sensible, et suffisamment caractéristique, quand on opère par comparaison avec des tissus ou excréta d'animaux sains comme témoins.

Sensibilité de la méthode

Nous avons pu retrouver par ce procédé, deux dixièmes de milligramme de pentachlorophénol dans 150 cm.³ d'urine. Les réactions, pratiquées sur le liquide provenant de la dissolution sur filtre par la soude des particules en suspension dans le distillat, ont donné les résultats suivants ;

Acide... —

$\text{NO}^3 \text{H}$ à chaud... —

$\text{SO}^4 \text{Cu}$... douteux

$\text{NO}^3 \text{Hg}$... +

Nous avons constaté, en opérant sur 200 cm³ d'urine auxquels nous avons ajouté un milligramme de pentachlorophénol, que les réactions au sulfate de cuivre et au nitrate d'argent étaient très nettement positives ; celle à l'acide nitrique était à peine perceptible.

§ 2 Recherche du pentachlorophénol dans l'organisme

Nous nous sommes efforcé de déterminer :

A. — Si le pentachlorophénol se localise dans certains organes.

B. — Si le pentachlorophénol est éliminé en nature par l'urine et les fèces.

A. — Le pentachlorophénol se localise-t-il dans quelques organes

1° Le Foie. — Nous avons opéré nos recherches sur des foies d'animaux ayant succombé à des doses toxiques faibles, administrées en une seule fois, et à des doses très faibles mais répétées.

1^{re} analyse. — Chien, 18 kg, injecté le 22/11-1923 par voie intraveineuse à une dose de 0 gr, 40. Le chien a été sacrifié une heure et demie après l'injection.

La recherche est pratiquée par entraînement à la vapeur.

Les réactions sont faites sur le liquide provenant de la dissolution par la soude des particules en suspension (A) et sur le filtrat (B).

A. $\left\{ \begin{array}{l} \text{acide fort... —} \\ \text{NO}^3\text{H à chaud.... ?} \\ \text{SO}^4\text{Cu... —} \\ \text{NO}^3\text{Ag... + comparable au tube témoin à } \frac{1}{60.000} \end{array} \right.$

B. — Toutes réactions négatives.

Présence de très faibles qualités de pentachlorophénol.

2^e analyse. — Chien poids 11 kg. une première fois à la dose de 0 gr. 05 par kilogramme, et 5 jours après à la dose de 0 gr. 07 par kilogramme, par voie hypodermique.

Méthode : entraînement par la vapeur.

A. — Liquide provenant à la dissolution par la soude des particules en suspension dans le distillat :

$\left\{ \begin{array}{l} \text{acide fort... —} \\ \text{NO}^3\text{H à chaud... —} \\ \text{SO}^4\text{Cu... —} \\ \text{NO}^3\text{Ag... + (à peine perceptible).} \end{array} \right.$

B. — Filtrat. — Toutes les réactions sont négatives.

Présence douteuse de quantités extrêmement faibles de pentachlorophénol dans ce foie cependant macroscopiquement très altéré.

3^e analyse. — Cobaye tué en 9 heures par une dose de 0 gr. 025 administré par voie gastrique.

Méthode : entraînement par la vapeur.

A. — Liquide provenant de la dissolution par la soude des particules en suspension : Réactions négatives.

B. Filtrat : Réactions négatives.

Recherche du phénol : Réactions négatives.

Pentachlorophénol et phénol libres décelables = 0.

4^e analyse. — Cobaye ayant subi une série d'injections hypodermiques de pentachlorophénol à doses croissantes,

à l'intervalle de 48 heures. La dernière correspondait à 0 gr. 17 par kilogramme. La totalité des doses injectées correspondait à 0 gr. 61 par kilogramme, en moyenne, et à 0 gr. 31 en valeur absolue.

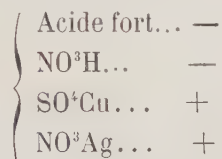
Méthode : épuisement par l'alcool de l'extrait sec. Toutes réactions sont négatives, sauf celle produite par le réactif de Millon. Celle au nitrate d'argent est masquée par un abondant précipité de chlorure d'argent.

Pentachlorophénol décelable par ce procédé = 0.

5^e analyse. — Cobaye ayant reçu par voie gastrique 5 doses, répétées à 24 heures d'intervalle, de 0 gr. 03 par kilogramme, et une de 0 gr. 017 par voie hypodermique.

Méthode : Entraînement par la vapeur.

A liquide provenant de la dissolution par la soude des particules en suspension :



B. Filtrat Toutes les réactions sont négatives, sauf celle par le nitrate d'argent à peine perceptible.

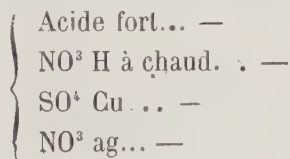
Présence de faibles quantités de pentachlorophénol.

2' Les reins.

1^{re} Analyse. — Reins d'un cobaye ayant succombé à une dose de 0 gr. 025 administrés par voie gastrique.

Méthode : Entraînement par la vapeur.

A. Liquide provenant de la dissolution par la soude des particules en suspension :



B. Filtrat, idem.

Pentachlorophénol libre décelable = 0

2^e Analyse. — Reins d'un chien ayant succombé à une injection hypodermique de 0 gr. 07 par kilogrammes.

Méthode : Entraînement par la vapeur.

A. Liquide provenant de la dissolution des particules en suspension par la soude :

Acide fort... —

NO³ H à chaud... —

SO⁴ Cu... + comparable au tube témoin au $\frac{1}{40000}$.

NO³ Ag... + id.

B. Filtrat. { Acide fort... —
 { NO³ H à chaud... —
 { SO⁴ Cu... —
 { NO³ Ag... + faible.

Présence de pentachlorophénol.

3^e Analyse. — Reins d'un cobaye ayant succombé à des doses faibles et répétées à 24 heures d'intervalle. (5 fois 0 gr. 03 par kilogramme et une fois 0 gr. 017).

Méthode : Entraînement par la vapeur.

A. Liquide provenant de la dissolution des particules par la soude :

{ Acide fort.... —
 { NO³H à chaud. —
 { SO⁴ Cu.... —
 { NO³ Ag... douteux

B. Filtrat : toutes les réactions sont négatives.

Pentachlorophénol libre décelable = 0

4^e Analyse. — Reins d'un chien de 16 kilogrammes, mort après une injection hypodermique correspondant à 0 gr. 10 par kilogramme.

Méthode : Entraînement par la vapeur.

A. Liquide provenant de la dissolution des particules

par la soude :	Acide fort...	—
	NO^3H à chaud	+
	$\text{Hg Cl}^2...$	—
	$\text{SO}^4 \text{ Cu}...$	+ comparable au tube
		témoin à $\frac{1}{15.000^e}$
	$\text{NO}^3\text{Ag}...$	+ id.

B. Filtrat : Toutes les réactions sont négatives, sauf celle au nitrate d'argent, donnant un précipité voisin de celui du tube témoin à $\frac{1}{60.000^e}$

Présence de pentachlorophénol.

3. Les poumons,

1^{re} Analyse. — Poumons d'un chien de 16 kilogrammes tué par 0 gr. 10 de pentachlorophénol en injection hypodermique.

Méthode : entraînement par la vapeur.

A. Liquide provenant de la dissolution des particules

par la soude :	Acide fort...	—
	NO^3H à chaud.	+ faible
	$\text{Hg Cl}^2...$	—
	$\text{SO}^4 \text{ Cu}...$	+ comparable au tube té-
		moin à $\frac{1}{20.000}$
	$\text{NO}^3 \text{ Ag}...$	+ id.

B. Filtrat.	Acide fort...	—
	NO^3H à chaud...	+ faible
	$\text{Hg Cl}^2...$	—
	$\text{SO}^4 \text{ Cu}...$	?
	$\text{NO}^3 \text{ Ag}.$	+ faible

Présence de pentachlorophénol.

2° *Analyse.* — Poumons d'un chien de 11 kilogrammes tué par une injection de 0 gr. 07 par kilogramme.

Méthode : Entraînement par la vapeur.

A. Liquide provenant de la dissolution des particules en suspension par la soude :

{	Acide fort...	—	
	NO ³ H à chaud..	—	
	Hg Cl ² ...	—	
	SO ⁴ Cu...	+ comparable au tube témoin à	
			1 40.000°
{	NO ³ Ag...	+ comparable au tube témoin à	
			1 50.000°

B. Filtrat : toutes les réactions sont négatives sauf celle obtenue par le nitrate d'argent : + faible.

Présence de pentachlorophénoi.

3° *Analyse.* — Poumons d'un cobaye ayant succombé à une dose de 0 gr. 017 par kilogramme, voie hypodermique, précédée de 5 doses de 0 gr. 03 par kilogramme, voie gastrique, espacées de 24 heures.

A et B. : Toutes les réactions sont négatives.

Pentachlorophénol décelable = 0

4° Le cœur et le sang.

Deux recherches ont été faites sur du sang de chiens intoxiqués par de fortes doses. La première recherche, faite par épuisement par le benzène, a été négative. La seconde, faite par entraînement par la vapeur, a été également négative.

Une recherche a été faite sur le cœur d'un chien de 11 kilogrammes, tué par une dose de 0 gr. 07 par kilogramme.

A. Liquide provenant de la dissolution des particules en suspension par la soude :

{	Acide fort...	—
	NO ³ H à chaud	—
	SO ⁴ Cu...	—
	NO ³ Ag...	+ très faible.

B. Filtrat : Toutes les réactions sont négatives.

Présence de très faibles quantités de pentachlorophénol.

5° Les centres nerveux.

Analyse. Matière cérébrale (bulbe compris) d'un cobaye de 930 grammes, tué par une dose de 0 gr. 12 par kilogramme.

Méthode : Entraînement par la vapeur.

A. Liquide provenant de la dissolution des particules en suspension par la soude :

{	SO ⁴ Cu...	+ comparable au témoin à $\frac{1}{30.000}$
	NO ³ Ag...	+ id.

Les réactions ont été faites au nombre de deux seulement, dans des verres de montre, par suite de la très faible quantité de liquide.

Si on considère la très petite quantité de matière cérébrale que renferme un cobaye, la netteté des réactions obtenues dans cette analyse porte à conclure que les centres nerveux fixent des quantités relativement considérables de pentachlorophénol. Rappelons en effet que sur trois examens de foies de cobayes, une seule fois nous avons pu déceler le toxique.

6° L'appareil digestif.

Analyse. — Tube digestif complet, lavé, haché et pulvé

d'un cobaye de 930 grammes, tué par une dose de 0 gr. 12 par kilogramme.

Méthode : Entraînement par la vapeur. — Les mêmes précautions sont prises que pour l'examen des fèces pour éliminer les causes d'erreur imputables à l'indol et au sactol.

Toutes les réactions sont négatives.

B. Le pentachlorophénol est-il éliminé en nature

Nous avons recherché le toxique dans les excreta d'animaux soumis à son action. Nous avons plus spécialement examiné l'urine ; nous avons aussi examiné les fèces, et nous aurions désiré examiner la salive qui est excrétée souvent en grande abondance par les chiens intoxiqués. Mais nous n'avons jamais pu recueillir ce liquide en quantités suffisantes pour une recherche sérieuse.

I. L'urine

Nous avons fait un grand nombre de recherches sur l'urine. D'une façon générale, toutes les recherches faites par un autre procédé que celui par entraînement par la vapeur d'eau ont été négatives.

1° Cas d'animaux intoxiqués par de fortes doses

1° Un chien de 16 kilogrammes a reçu une dose de 0 gr. 10 par kilogramme. Ce chien a uriné environ 10 heures après l'injection hypodermique, et est mort en 12 heures.

Son urine est analysée immédiatement quant aux éléments normaux et anormaux ; 250 cm² sont réservés pour la recherche du pentachlorophénol. Nous avons commencé cette recherche comme pour un épuisement au benzène : préparation de l'extrait sec dans le vide, à basse température. Mais pendant le cours de cette opération, qui demande

plusieurs jours, ayant constaté que le pentachlorophénol est entraînable par la vapeur d'eau, nous avons hâtivement mis au point l'appareil et la méthode par entraînement, et les avons appliqués à cet extrait sec, que nous avons délayé à moitié du volume initial de l'urine et acidifié.

A. Liquide provenant de la dissolution des particules par la soude :

{	Acide fort....	—	
	Hg CL ²	+	
	NO ³ H.....	+	
	SO ⁴ Cu.....	+	comparable au tube témoin au $\frac{4}{10.000^e}$
	NO ³ Ag.....	+	id.

B. Filtrat : Réactions négatives.

Présence de pentachlorophénol.

2°. Un cobaye reçoit une dose de 0 gr. 12 par kilogramme. Il meurt en 7 heures et demie sans uriner. A l'autopsie, la ponction de la vessie procure 4 cm³ d'urine. Cette urine est mise dans un tout petit appareil à entraînement par la vapeur : le ballon est de 50 cm³ de contenance.

Les réactions, pratiquées après la dissolution des particules en suspension dans le distillat, sont :

{	NO ³ H à chaud...	—	
	SO ⁴ Cu.....	÷ faible.	
	NO ³ Ag.....	+	comparable au tube témoin au $\frac{1}{50000^e}$

Présence de pentachlorophénol.

3° Un lapin de 2 kg. 125 reçoit une dose de 0 gr. 16 par kilogramme. Il meurt sans uriner. La ponction vésicale nous procure une urine trouble qui est mise dans un appareil à entraînement par la vapeur d'eau.

Les réactions sont les suivantes :

A. Liquide provenant de la dissolution par la soude des particules en suspension :

{	Acide fort..... —	
	NO ³ H à chaud... +	
	SO ⁴ Cu..... +	comparable au tube témoin au $\frac{1}{20000}$
{	NO ³ Ag..... +	id.

B. Altrat : Réactions négatives.

Présence de pentachlorophénol.

2° Cas d'animaux ayant absorbé de faibles doses.

1° Un cobaye ayant reçu une dose de 0 gr. 025 de pentachlorophénol meurt sans uriner. Nous ponctionnons sa veine et faisons subir à l'urine l'examen par la méthode d'entraînement à la vapeur.

A et B : aucune réaction positive.

Pentachlorophénol décelable = 0.

2° Nous faisons subir à un chien de 11 kilogrammes une première injection de 0 gr. 55, correspondant à 0 gr. 05 par kilogramme. Il urine 6 heures après l'injection. La recherche du pentachlorophénol, par entraînement à la vapeur, montre que l'élimination du toxique est à peine commencée : une seule réaction, celle au nitrate d'argent, semble positive. Celle au sulfate de cuivre est franchement négative.

20 heures après, le chien émet une nouvelle quantité d'urine. L'analyse y révèle de faibles quantités de toxique :

A. Liquide provenant de la dissolution par la soude des particules en suspension :

{	NO ³ H à chaud... —	
	SO ⁴ Cu..... +	comparable au témoin à $\frac{1}{40000}$
	NO ³ Ag..... +	

B. Filtrat : Réactions négatives.

Un résultat identique est observé 44 heures après l'injection. Les réactions au sulfate de cuivre et au nitrate d'argent donnent des précipités comparables à ceux obtenus avec une solution titrée au $\frac{1}{40000}$.

70 heures après l'injection, l'analyse révèle encore de faibles traces de toxique dans l'urine : La réaction au nitrate d'argent accuse une coloration jaune et un louche se forme après plusieurs minutes, qui gagne le fond du tube.

116 h. après l'injection, l'analyse ne révèle plus de toxique

120 heures après la première injection, le chien reçoit alors, toujours par voie hypodermique, 0 gr. 07 par kilogramme.

Il urine 6 heures 30 après, et l'analyse ne révèle pas de pentachlorophénol dans son urine.

Le chien est trouvé mort 21 heures après l'injection. Il a uriné avant de mourir. L'examen de cette urine y révèle la présence très nette de pentachlorophénol ; trois réactions, cependant, sont négatives (acide fort, chlorure mercurique et acide nitrique à chaud), indiquant que le toxique n'est pas en grandes quantités.

Enfin, à l'autopsie, ayant trouvé une vessie pleine, nous la ponctionnons. Elle fournit 330 cm³ d'urine dont une partie est réservée au dosage des éléments habituels ; le reste est soumis à la recherche du toxique, par entraînement à la vapeur.

A. Liquide provenant de la dissolution des particules en suspension par la soude :

{	Acide fort....	+	
	Hg CL ²	+	
	NO ³ H à chaud	+	
	SO ⁴ Cu.....	+	comparable au tube témoin
	NO ³ Ag.....	+	id. $\frac{1}{10000}$

B. Filtrat. Réaction négative, sauf celles au sulfate de cuivre et au nitrate d'argent, faiblement positives.

Toutes les réactions étant positives en A, le pentachlorophénol existe en quantité assez considérables, trop faibles cependant pour un isolement du toxique et pour un dosage de chlore.

2° Les Fèces.

La recherche du pentachlorophénol dans les matières fécales doit être débarrassée d'une cause d'erreur due à l'entraînement possible de l'indol et du scatol par la vapeur d'eau. Les fèces, broyées avec de l'eau, sont mises dans l'appareil décrit pour la recherche du pentachlorophénol et additionnées d'un excès de soude. On fait passer le courant de vapeur, et on recueille le distillat tant qu'il donne les réactions de l'indol et du scatol (réaction de Legal au nitroprussiate, et technique de Kitasato au nitrite de soude). Nous avons fait agir les réactifs des chlorophénols sur ce distillat : le nitrate d'argent et le sulfate de cuivre n'ont donné aucun précipité ni coloration. Seul, l'acide nitrique à chaud a donné une coloration jaune-orangée, sale, différente de celle obtenue avec le pentachlorophénol. Quand le distillat ne donne plus les réactions de l'indol et du scatol, on arrête l'opération, ajoute de l'acide sulfurique en fort excès aux matières et fait à nouveau passer le courant de vapeur.

Dans trois examens de fèces que nous avons faits sur trois chiens intoxiqués par des doses de 0 gr. 12, 0 gr. 10 et 0 gr. 07 par kilogramme, administrées par voie hypodermique, nous avons obtenu des résultats faiblement positifs. Dans les trois cas, seule a été positive (et faiblement) la réaction au nitrate d'argent.

TROISIÈME PARTIE

Modifications apportées dans la composition de l'urine par suite de l'introduction de pentachlorophénol dans l'organisme

Frappé par la faible quantité de pentachlorophénol qui semble être éliminé en nature, tant par les urines que par les fèces, nous nous sommes demandé si ce corps n'était pas partiellement au moins, transformé pendant son passage dans l'organisme. C'est pourquoi, sur le conseil de M. Barral, nous avons examiné avec attention l'urine de chiens soumis à un régime rigoureux.

Les chiens, arrivant de la fourrière, sont mis dans des cages spéciales. Une ration d'entretien fixe proportionnée à leur poids leur est servie trois fois par jour et ils ont de l'eau à discrétion. Leur urine est analysée tous les jours jusqu'à ce que sa composition ne varie plus. Alors on administre le toxique. L'urine du sujet intoxiqué est recueillie et analysée. Voici dans quelles conditions nous avons effectué nos analyses : Pour chacun des éléments de l'urine, un seul procédé est employé exclusivement. Les mêmes solutions titrées et les mêmes appareils servent à toute la série des analyses ; de la sorte, les résultats sont absolument comparables entre eux. (C'est ainsi que les

chlorures sont toujours titrés par le procédé Charpentier-Wohlard, que l'urée est titrée, avec l'appareil d'Ambard, (à l'aide de la même solution d'hypobromite, etc.)

1^{re} Observation. — Chien n° 5, pesant 6 kg 400. Le tableau ci-dessous ne donne que les analyses des deux jours précédant l'injection. Il a été fait en réalité une analyse complète tous les jours pendant cinq jours, le chien ayant été injecté le sixième jour après sa réception à la dose de 0 gr. 12 par kilogramme.

	29/10	30/10	Moyenne des deux dernières analyses	Après l'injection
Volume	450 c ³	490		250
Odeur	Sui gene	s.g. faible		presq. nul
Couleur	jaune	jaune p.		jaune clair
Acidité { apparente (HCL) 0/100.	0,29	0,36	0,31	0,36
{ absolue (id.)	1,15	1,16	1,155	1,71
Ammoniaque (procédé Ronchèse) NH ³ .	0,35	0,35	0,35	0,17
Urée (par l'hypobromite)	7,68	7,68	7,68	1,53
Chlorures (Charpentier-Wohlard) NaCl.	5,50	2,45	3,97	1,52
Phosphates (P ² O ⁵)	0,53	0,46	0,49	0,25
Acide urique (Blarez et Tourrou) . . .	1,23	1,34	1,28	1,80
Sulfoconjugués (Salkowsky).	»	traces		? (2)
Albumine	0,05 ¹	0		0
Sang.	0	0	0	0
Bile	0	0	0	0
Acétone	0	0	0	0
Sucre.	0	0	0	0
Diazoréaction d'Ehrlich	—	—	—	—
Recherche du Phénol	»	»	»	Négative

(1) L'apparition d'albumine est accidentelle : Il n'y en avait pas dans l'urine des jours précédents. Il est à supposer que le chien a pu euverser un peu de nourriture qui a été entraînée dans l'entonnoir servant à recueillir l'urine.

(2) Impossible à doser par suite de la trop faible quantité d'urine,

En résumé :

a) Eléments normaux. L'acidité monte légèrement. Tous les éléments normaux baissent en teneur, surtout l'urée, à l'exception cependant à l'acide urique qui monte.

b) Eléments anormaux. Pas d'apparition d'éléments anormaux.

Deuxième observation. . — Chien N° 6, 16 kilogrammes, injecté à la dose de 0gr. 10 par kilogramme.

	11/11	12/11	Moyenne	APRÈS injection
Volume	?	1 ^l ,150		0 ^l ,600
Odeur	sui gen	sui gen		sui gene.
Couleur	jaune	jaune		jau.-roug
Acidité { apparente	0,45	0,36	0,40	0,51
{ absolue	0,40	0,31	0,35	0,20
Ammoniaque	0,63	0,63	0,63	1,16
Urée	11,27	9,08	10,17	3,84
Chlorures	9,47	9,47	9,47	4,56
Phosphates	0,69	0,67	0,68	1,10
Acide urique	1,28	1,78	1,53	2,60
Sulfoconjugués	traces	teaces	»	traces
Albumine	0	0	0	traces
Sang	0	0	0	0
Sucre	0	0	0	13,33
Acétone	0	0	0	0
Bile	0	0	0	0
Diazoréaction	—	—	—	—
Recherche du phénol	«	«	—	—

En résumé :

a) éléments normaux. — Diminution de certains éléments, surtout l'urée et les chlorures. Augmentation de certains autres, ammoniaque, phosphates, acide urique.

b) éléments anormaux. — Apparition de traces d'albu-

mine, et de glucose. Le dosage du glucose a été effectué à la liqueur de Fehling, après défécation au Réactif de Courtonne, puis au sous-acétate de plomb.

Troisième observation. — Chien de 11 kilogrammes ayant subi deux injections, la première à la dose, de 0 gr.05 et la seconde, 5 jours plus tard, à la dose de 0 gr. 07 par kilogramme.

	Avant la première injection	6 h. après	20 h. après	44 h. après	70 h. après	146 h. après	6 heures après la 2 ^e inject.	20 h. après	Urine recueillie par ponct.
Volume . . .	630 ^{cc}	80	470	620	540	600	120	115	330
Odeur . . .	sui gen	sui gen.	sui gen.	sui gen.	sui gen.	sui gen	sui gen	sui gen.	sui gen.
Couleur. . .	jaune	jau pâle	jaune	jaune	jau clair	jaune	jaune	jaune	jaune
Acidité absolue	1,12	« ⁽¹⁾	1,15	1,15	»	1,16	1,75	» ⁽²⁾	1,43
Chlorures . . .	8,12	»	6,72	7,54	»	6,26	4,56	»	5,54
Urée	5,80	5,04	7,81	7,56	»	5,04	3,16	»	11,35
Phosphates . .	0,43	»	0,81	0,58	»	0,52	1,48	»	2,10
Acide urique . .	0,20	»	0,32	0,40	»	0,32	1,06	»	3,25
Albumine . . .	0	»	0	0	»	0	0	»	0
Sang.	0	»	0	0	»	0	0	»	0
Sucre	0	»	0	0	»	0	0	»	0
Bile	0	»	0	0	»	0	0	»	0
Acétone	0	»	0	0	»	0	0	»	0
Diazoréaction. .	—	»	—	—	»	—	—	—	—
Phénol	»	0	0	0	0	»	0	0	0
Pentachlorophén.	»	0	+	+	traces	0	0	+	+

En résumé :

a) Eléments normaux. — Seule l'augmentation de

(1) Sur les 80 cm³ l'urine recueillies, la majeure partie a dû être employée pour la recherche du pentachlorophénol et du phénol.

(2) La totalité de cette urine a servi à la recherche du pentachlorophénol et du phénol.

l'acide urique peut-être considérée comme un phénomène constant.

b) Eléments anormaux. — Aucune apparition d'éléments anormaux, si ce n'est celle de pentachlorophénol, déjà étudiée. Jamais il n'y a eu apparition de phénol.

De ces observations, on ne peut pas tirer de conclusions bien fermes. La teneur en acide urique augmente toujours, et celle en urée baisse quelquefois dans de très grandes proportions. Il faut voir là, probablement, l'indice d'une lésion du foie, ce que l'autopsie et l'examen histologique ont souvent montré.

Tout ce qu'on peut dire, c'est qu'une certaine perturbation est apportée dans la composition de l'urine après administration de pentachlorophénol. Mais une chose est certaine, c'est que ni le chlore, ni l'acidité urinaires ne sont augmentés dans de sensibles proportions ; nous avons au contraire constaté qu'ils sont généralement diminués (chlorures) stationnaire ou très légèrement augmentée (acidité). D'autre part, l'absence du phénol dans ces urines, et de tous autres produits de réduction du pentachlorophénol a toujours été constatée. Rien ne permet donc de supposer que le toxique est réduit pendant son passage dans l'organisme.

CONCLUSIONS

1° Le pentachlorophénol est toxique. Les doses toxiques, par voie hypodermique, sont les suivantes : 36 milligrammes par kilogramme d'animal pour la grenouille verte ; 400 milligrammes par kilogramme pour le cobaye, et 70 milligrammes par kilogramme pour le chien.

2° Les effets physiologiques du pentachlorophénol sont les suivants :

Paralysie des membres postérieurs, faiblesse et trémulations chez la grenouille. La paralysie et les trémulations sont d'origine centrale.

Chez le cobaye : Dyspnée, faiblesse et paralysie des membres postérieurs.

Dyspnée et faiblesse, sans paralysie ni trémulations, chez le chien.

Le pentachlorophénol provoque une élévation de la température interne des animaux soumis à son action.

Nous avons observé que les animaux soumis à son action prolongée présentent le phénomène d'accoutumance.

3° Le pentachlorophénol est antiseptique. A la dose de 500 milligrammes par litre, en milieu aqueux, le colibacille est tué en 15 minutes. Pour le staphylocoque, la dose est de 75 milligrammes par litre en milieu aqueux et 100 milligrammes en milieu serum.

4° A la dose de 2 milligr. par litre, le pentachlorophénol active la fermentation du glucose par la levure de bière,

Cette fermentation est gênée par des doses plus fortes, et supprimée par une dose voisine de 80 milligrammes par litre.

5° Le pentachlorophénol empêche la germination de quelques graines, à des doses variables selon l'espèce.

6° Nous avons décelé du pentachlorophénol dans l'urine l'encéphale, le rein, le poumon, et, en très faibles quantités, dans le foie et les fèces des animaux soumis à son action.

Sauf dans les cas d'intoxications par fortes doses, le toxique n'apparaît dans l'urine que six heures au moins après l'administration.

7° Par suite de l'introduction de pentachlorophénol dans l'organisme, l'urine subit des perturbations dans sa composition. En général, le taux de l'acide urique augmente. Il n'y a ni albuminurie, ni hématurie, ni élimination de phénol. Les indications fournies par la composition de l'urine avant et après administration de pentachlorophénol ne permettent pas de conclure à une réduction partielle de celui-ci dans l'organisme.

Vu et permis d'imprimer :

LYON, le 24 Mars 1924.

Vu: LE DOYEN,
J. LÉPINE.

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,
E. BARRAL.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
J. CAVALIER.

BIBLIOGRAPHIE

- E. BARRAL. — Action des chlorures d'acides sur l'hexachlorophénol en présence de chlorure d'aluminium; formation d'éthers du pentachlorophénol. — Bulletin de la Société chimique de Paris 1895.
- E. BARRAL. — Recherches sur quelques dérivés surchlorés du phénol et du benzène. — Paris 1895.
- E. BARRAL. — Quelques carbonates mixtes du pentachlorophénol et d'alcools. Bulletin de la Société chimique de Paris 1900.
- E. BARRAL. — Action des oxydants sur le pentachlorophénol. — Bulletin de la Société chimique de Paris 1902.
- BECHOLD ET EHRLICH. — Zeitschrift für physiol. chem. 1906.
- BINET. — Revue médicale suisse-romande 1895 et 1896.
- DAKIN ET DUNHAM. — Manuel des antiseptiques. — Vigot 1909.
- GROSFILLEX. — Sur le tétrachlorophénol et quelques tétrachlorophénates. — 1901.
- HENRIJEAN. — Pharmacodynamie. — Baillière 1913.
- JAMBON. — Sur le pentachlorophénol et quelques pentachlorophénates. 1900.
- KUNKEL. — Handbuch der Toxikologie.
- LAURENT. — Annales de chimie et de physique T. III.
-

TABLE DES MATIÈRES

	PAGES
INTRODUCTION	7
PREMIÈRE PARTIE	
Etude de l'action toxique.	11
1. Détermination de la dose toxique minimale pour quelques espèces animales. Effets physiologiques .	11
2. Détermination de la dose toxique minimale pour la levure de bière, pour divers micro-organismes et effets sur la germination de quelques plantes . .	29
DEUXIÈME PARTIE	
Recherche du toxique	39
1 Réactions. Leur sensibilité. Méthodes de recherche du toxique	39
TROISIÈME PARTIE	
Modifications apportées dans la composition de l'urine par suite de l'introduction de pentachlorophénol dans l'organisme	55
CONCLUSIONS	60
BIBLIOGRAPHIE	62

ACHEVÉ D'IMPRIMER LE
DIX-NEUF AVRIL MIL NEUF
CENT VINGT-QUATRE, SUR
LES PRESSES DE « LA VIE
UNIVERSITAIRE », DIREC-
TION A PARIS, 13, QUAI DE
CONTI, (ENTRE L'HOTEL DE
LA MONNAIE ET LE PALAIS
DE L'INSTITUT).
